

西藏地区不同作物秸秆体外发酵特性研究

巴桑珠扎¹ 陈亮^{2, 3*} 奥斯曼¹ 于翠翠¹ 赵丽¹ 周传社^{2,4**} 李斌^{1**}

(1.西藏自治区农牧科学院畜牧兽医研究所, 拉萨 850000; 2.湖南农业大学动物科学技术学院, 长沙 410125; 3.中国科学院亚热带农业生态研究所亚热带农业生态过程重点实验室, 湖南省畜禽健康养殖工程技术中心, 农业部中南动物营养与饲料科学观测实验站, 长沙 410125; 4.湖南畜禽安全生产协同创新中心, 长沙 410128)

摘要: 本试验旨在利用体外产气法评定西藏地区不同作物秸秆的营养价值。选取西藏地区 5 种常见作物秸秆(豌豆秸秆、玉米秸秆、青稞秸秆、小麦秸秆、油菜秸秆), 通过单因素试验设计, 利用体外产气法评定 5 种作物秸秆体外发酵 48 h 的产气量、理论最大产气量(V_f)、甲烷(CH_4)产量、逻辑斯蒂-指数(LE)模型产气参数、发酵液 pH 和 NH_3-N 浓度、主要 VFA 产量、体外干物质降解率(IVDMD)和体外中性洗涤纤维降解率(IVNDFD)等指标。结果显示: 5 种作物秸秆体外发酵 48 h 的产气量按玉米秸秆、青稞秸秆、豌豆秸秆、小麦秸秆、油菜秸秆的顺序依次降低。体外发酵 48 h 后, 玉米秸秆的 V_f 、IVDMD、IVNDFD、 CH_4 产量(豌豆秸秆除外)、丙酸和总 VFA 产量均显著高于其他 4 种作物秸秆($P<0.05$), 其体外发酵液 pH 亦显著低于其他秸秆($P<0.05$)。结果表明, 玉米秸秆体外发酵效果最佳, 与

收稿日期: 2016-08-06

基金项目: 娟姗牛生产性能与乳品质提升营养调控关键技术研究(西藏自治区财政专项)

作者简介: 巴桑珠扎(1978—), 男, 藏族, 西藏昌都人, 本科, 动物遗传育种专业。

E-mail: 157493385@qq.com

*同等贡献作者

**通信作者: 周传社, 研究员, 硕士生导师, E-mail: zcs@isa.ac.cn; 李斌, 助理研究员, E-mail: 276504821@qq.com

其他试验作物秸秆相比更容易被瘤胃微生物降解利用。

关键词：西藏；作物秸秆；体外发酵

中图分类号：S816

文献标识码：

文章编号：

草地畜牧业一直是西藏的重要经济基础，几十年来一直占农业生产总值的 60% 左右^[1]，而近年来，随着西藏人口增加和畜牧业的进一步发展，传统的单纯依赖天然草地为主的畜牧业生产模式已不能满足牲畜对饲草的要求^[2-3]；同时，随着家畜数量的不断增加，草畜之间矛盾也日益突出，生态环境不断恶化，严重影响西藏地区畜牧生产系统的平衡、稳定与发展^[4]。西藏地区每年产约 70 万 t 农作物秸秆，青稞秸秆是西藏主要的农作物秸秆资源之一。据统计，全区仅青稞秸秆年产量就达约 40 万 t，其中约 60% 用作家畜饲料。因此，充分利用西藏农区丰富的农作物秸秆资源，对满足西藏地区畜牧业生产对饲草的需求，维持西藏地区生态平衡稳定，促进藏区经济发展等都具有重要意义。

近年来，学者们对西藏地区牧草以及作物秸秆的研究较多。曲广鹏^[5]通过对西藏农区牧草和饲草作物引种试验表明，燕麦、多花黑麦草、饲用玉米、绿麦、红苕等 5 种牧草适合在西藏农区及河谷地区种植，但其并未对这 5 种牧草进行相关的营养价值评价。张中岳^[6]对西藏地区 28 种牧草的营养价值及瘤胃降解特性进行了评价，为进一步研究西藏牧草提供了宝贵的基础数据。张吉等^[7]研究了添加剂对西藏燕麦和箭筈豌豆混合青贮品质的影响，结果表明添加糖蜜能显著提高混合青贮的品质。孙肖慧等^[8]、李君凤等^[9]通过向西藏地区燕麦和紫花苜蓿混合青贮中添加 4% 糖蜜或 3.5% 乙醇或 0.4% 乙酸获得优质青贮饲料。赵庆杰等^[10]通过向西藏青稞秸秆和多年生黑麦草混合青贮中添加糖蜜和乳酸菌显著提高了混合青贮发酵品质。原现军^[11]对西藏作物秸秆与牧草混合青贮进行了研究，有效地提高了混合青贮的发酵品质。综上，目前对西藏地区牧草及作物秸秆的研究多数集中在西藏地区青贮料的研究领域，而对作物秸秆干草瘤胃降解特性的研究鲜有报道。

因此，本试验利用体外产气技术，通过对西藏地区常见作物秸秆的瘤胃体外发酵参数进行研究，并通过对试验数据分析，筛选出易被瘤胃微生物降解利用的作物秸秆，以期为西藏地区农牧业发展提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品采集及处理

试验作物秸秆（豌豆、玉米、青稞、小麦、油菜秸秆）采集于西藏自治区贡嘎县岗堆镇吉纳村草场，作物秸秆经 65 °C烘干 24 h，粉碎后经 1 mm 孔径筛后备用。

1.1.2 试验动物及饲粮

本试验供体奶牛为健康状况良好、体重[（500±50） kg]相近的3头装有永久瘤胃瘘管的荷斯坦奶牛，由湖南省长沙市望城区白若铺镇胜和奶牛养殖基地提供。试验期间，奶牛饲粮参照NRC(2001)标准配制。饲粮由水稻秸秆和精料补充料组成，饲粮精粗比为40:60。饲粮组成及营养水平（表1）与文献[12]相同。

表 1 饲粮组成及营养水平（干物质基础）

Table 1 Composition and nutrient levels of the diet (DM basis)^[12] %

项目 Items	含量 Content
原料 Ingredients	
水稻秸秆 Rice straw	40.00
玉米 Corn	39.60
豆粕 Soybean meal	19.10
磷酸氢钙 CaHPO ₄	1.00
石粉 Limestone	0.30
预混料 Premix ¹⁾	1.00
营养水平 Nutrient levels ²⁾	
干物质 DM	70.88
粗蛋白 CP	17.98
酸性洗涤纤维 ADF	42.98
中性洗涤纤维 NDF	23.72
钙 Ca	0.72

磷 P	0.35
泌乳净能 NE _L / (MJ/kg)	7.70

¹⁾每千克预混料含有 Contained the following per kilogram of premix:VA≥2 000 000 IU，VD≥300 000 IU，VE≥3 000 IU，Cu≥3 500 mg，Fe≥10 000 mg，Zn≥10 000 mg，Mn≥9 000 mg，Mg≥9 800 mg，I≥90 mg，Se≥40 mg，Co≥30 mg。

²⁾测定值 Measured values。

1.2 方法

1.2.1 作物秸秆营养成分分析方法

经处理后的作物秸秆，利用杨胜^[13]提供的饲料分析方法分别对其干物质（DM）、粗蛋白质（CP）、粗脂肪（EE）、粗纤维（CF）、粗灰分（ash）、中性洗涤纤维（NDF）和酸性洗涤纤维（ADF）等营养成分含量进行测定，结果见表 2。

表 2 作物秸秆营养价值

Table 2 Nutritive value of crop straws %

作物秸秆 Crop straws	含量 Content						
	干物质 DM	粗脂肪 EE	粗蛋白质 CP	粗纤维 CF	粗灰分 Ash	中性洗涤纤维 NDF	酸性洗涤纤维 ADF
豌豆秸秆 Common vetch straw	89.64	7.64	18.3	31.68	9.24	56.62	41.56
玉米秸秆 Maize straw	90.42	6.16	8.24	31.22	8.60	70.30	40.49
青稞秸秆 Hullessbarley straw	89.03	5.13	6.89	32.26	7.91	77.58	45.93
小麦秸秆 Wheat straw	92.25	5.62	7.01	38.54	6.29	68.98	52.90
油菜秸秆 Rape straw	90.37	2.84	6.07	46.29	5.83	69.75	58.97

1.2.2 体外发酵液配制

按照 Menke 等^[14]提供的方法配制厌氧缓冲液。于晨饲前采集 3 头瘰管牛瘤胃内容物，用 8 层纱布过滤，滤液等体积混合后装入事先充满 CO₂ 并预热到 39.5 °C 的保温瓶中，迅速带回实验室，与事先在 39.5 °C 恒温水浴锅中预热的厌氧缓冲液混合（V_{缓冲液}：V_{瘤胃液}=9:1）。并持续通入 CO₂ 。

1.2.3 体外培养

称取 $(0.500\ 0 \pm 0.000\ 3)$ g 粉碎的作物秸秆于 145 mL 发酵瓶中，置于 39.5 °C 恒温培养箱中预热，向发酵瓶中加入发酵液前，向瓶中通入 CO₂ 1 min，随后加入 50 mL 发酵液，立即加上瓶塞瓶盖并持续通入 CO₂，使用针头放气，使内外压强保持一致，然后迅速放回恒温培养箱，39.5 °C 恒温静止培养 48 h。每种发酵底物设置 12、24、48 h 3 个采样时间点，每个采样时间点设置 3 个样品重复，即在每个采样时间点取出 3 个发酵瓶进行采样。

1.2.4 体外发酵产气量测定

体外发酵产气量按王祚等^[12]提供方法进行测定。

利用 Wang 等^[15-16]提出的逻辑斯谛-指数 (logistic-exponential, LE) 模型对累积产气量数据进行拟合：

$$V = V_f * \frac{1 - \exp(d - t * k)}{1 + \exp(b - t * k)};$$

$$FRD_0 = \frac{k}{1 + \exp(b)};$$

$$t_{0.5} = \frac{\ln(2 + \exp(b))}{k}。$$

式中：V 表示 t 时间点底物的产气量 (mL)；V_f 表示理论最大产气量 (mL)；k 表示产气分率(h)；b 和 d 是曲线的形状指标，b>0 表示曲线为 S 形，b<0 则表示曲线非 S 形；FRD₀ 表示发酵初期产气速率 (<12 h) (mL/h)；t_{0.5} 表示达到最大产气量 1/2 时所需的时间 (h)。

1.2.5 体外发酵相关参数测定

1.2.5.1 甲烷 (CH₄) 测定及计算方法

分别于体外发酵的 12、24、48 h 取出发酵瓶，利用注射器抽取 5 mL 瓶内气体注入事先已抽真空的集气瓶中，然后再注入 25 mL 高纯度 N₂，按照 Li 等^[17]提供的方法进行相关参数的测定。CH₄ 产量计算公式为：

$$V_{CH_4} = 6 * V_t * C。$$

式中：6 表示稀释倍数； V_t 表示在发酵时间 t 时发酵瓶中气体总体积(mL)； C 表示在发酵时间 t 时所测 CH_4 浓度(%)； V_{CH_4} 表示在发酵时间 t 时所生产 CH_4 体积(mL)。

1.2.5.2 pH 测定方法

分别于体外发酵的 12、24、48 h 取出发酵瓶，发酵液经 400 目尼龙布过滤，取 5 mL 滤液，利用 pH 计 (REX PHS-3C, 上海仪器设备厂) 立即测定滤液 pH。

1.2.5.3 氨态氮 (NH_3 -N) 浓度测定

分别于体外发酵的 12、24、48 h 取出发酵瓶，发酵液经 400 目尼龙布过滤，取 4 mL 滤液，分装到 2 个容积为 2 mL 的离心管中，放入 -20 °C 冰箱保存，用于测定 NH_3 -N 浓度。利用冯宗慈等^[18]提供的方法对 NH_3 -N 浓度进行测定。

1.2.5.4 主要挥发性脂肪酸 (VFA) 产量测定

分别于体外发酵的 12、24、48 h 取出发酵瓶，每瓶取 2 mL 发酵液，经 15 000 r/min 离心 15 min 后，取 1.5 mL 上清液于 2 mL 的离心管中，并加入 0.15 mL 25% 偏磷酸，放入 -20 °C 冰箱过夜保存，按照 Wang 等^[19]提供的方法测定主要 VFA 产量。

1.2.5.5 体外干物质降解率 (IVDMD) 测定及计算方法

分别于体外发酵的 12、24、48 h 取出发酵瓶，发酵液经 400 目尼龙布过滤，将过滤后的残渣全部转移至石英坩埚中并用热蒸馏水反复冲洗，然后置于 105 °C 烘箱中烘 8 h 后测定剩余干物质质量，并计算 IVDMD：

$$IVDMD = [1 - (M_2 / M_1)] * 100%。$$

式中： M_1 为发酵前发酵底物干物质质量 (g)； M_2 为发酵后发酵底物干物质剩余量 (g)。

1.2.5.6 体外中性洗涤纤维降解率 (IVNDFD) 测定及计算方法

测定过体外干物质消失率后的剩余干物质，按照 Hall 等^[20]提供的方法进行 NDF 质量的测定，并计算 IVNDFD：

$$IVNDFD = \left[1 - \left(m_2 / m_1 \right) \right] * 100\% \text{。}$$

式中： m_1 为发酵前发酵底物中 NDF 质量（g）； m_2 为发酵后发酵底物 NDF 剩余量（g）。

1.3 数据分析

试验数据采用 SAS 8.2 的 MIXED 过程进行统计,统计分析的差异显著性定义为 $P<0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 不同作物秸秆对体外发酵产气量的影响

不同作物秸秆体外发酵产气量如图 1 所示。5 种作物秸秆在体外发酵初期（1~4 h）时，产气量均无明显差异；在体外发酵 4 h 后，产气速率逐渐增大；在体外发酵 6~24 h 时，5 种作物秸秆体外产气曲线斜率最大，说明此时间段各作物秸秆体外产气速率也达到最大值。体外发酵 24 h 后，曲线斜率变小，说明 5 种作物秸秆体外产气速率也逐渐变小，产气量趋于稳定。玉米秸秆体外产气量以及产气速率在发酵开始 4 h 后一直高于其他 4 种作物秸秆，体外发酵 24 和 48 h 时，玉米秸秆体外产气量分别为 75.33 和 97.84 mL，均高于其他 4 种作物秸秆；油菜秸秆体外发酵 48 h 时的产气量最低，为 58.53 mL，低于其他作物秸秆。5 种作物秸秆体外发酵 48 h 的产气量按玉米秸秆、青稞秸秆、豌豆秸秆、小麦秸秆、油菜秸秆的顺序依次降低。

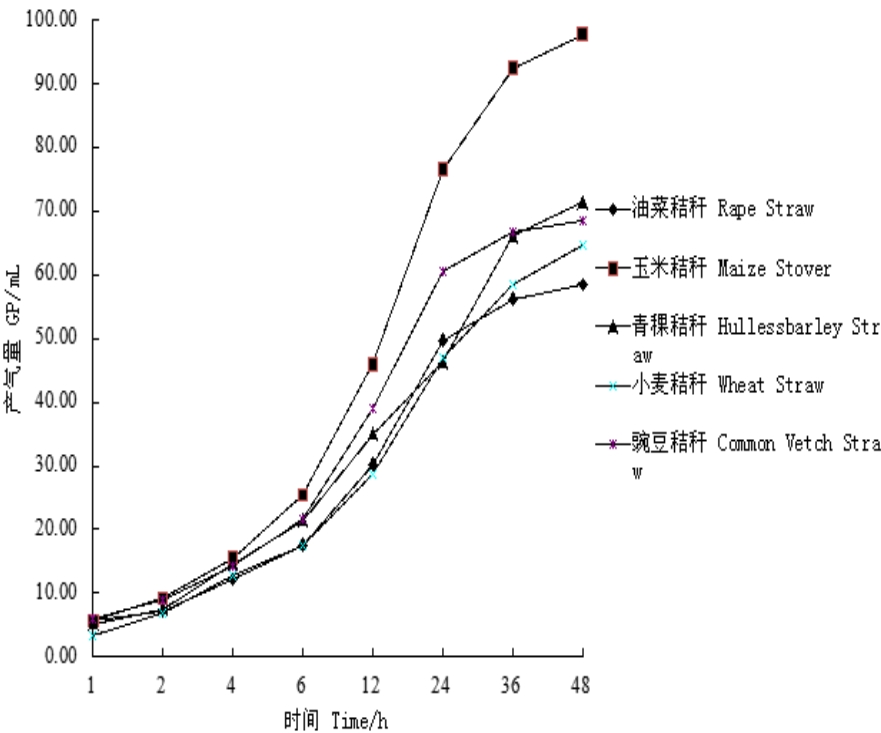


图 1 不同作物秸秆对体外发酵产气量的影响

Fig.1 Effects of different crop straws on *in vitro* fermentation gas production

2.2 不同作物秸秆对体外发酵产气参数及 CH₄ 产量的影响

不同作物秸秆对体外发酵产气参数及 CH₄ 产量的影响见表 3。不同作物秸秆体外发酵的理论最大产气量(V_f)以玉米秸秆最高 (101.92 mL)，显著高于其他作物秸秆 ($P<0.05$)；而油菜秸秆的 V_f 最低 (59.09 mL)，显著低于其他 4 种作物秸秆 ($P<0.05$)。对于体外发酵的初始产气速率(FRD_0)，5 种作物秸秆之间均无显著差异 ($P>0.05$)。对于体外发酵时达到最大产气量 1/2 时所需时间 ($t_{0.5}$)，以小麦秸秆最高 (17.74 h)，与青稞秸秆没有显著差异 ($P>0.05$)，但显著高于豌豆、玉米和油菜秸秆 ($P<0.05$)，且后三者之间没有显著差异 ($P>0.05$)。不同作物秸秆体外发酵 CH₄ 产量以豌豆秸秆和玉米秸秆相对较高，二者之间无显著差异 ($P>0.05$)，但均显著高于青稞秸秆、油菜秸秆和小麦秸秆体外甲烷产量 ($P<0.05$)，且后三者之间 CH₄ 产量没有显著差异 ($P>0.05$)。

表 3 不同作物秸秆对体外发酵产气参数及 CH₄ 产量的影响

Table 3 Effects of different crop straws on *in vitro* fermentation gas production parameters and

CH ₄ production				
作物秸秆 Crop straws	产气参数 Gas production parameters			CH ₄ 产量 CH ₄ production/ (mL/g)
	理论最大产 气量 V _f /mL	初始产气速率 FRD ₀ / (10 ⁻² mL/h)	达到最大产气量 1/2 时所需时间 t _{0.5} /h	
豌豆 秸 秆 Common vetch straw	68.62±0.99 ^c	4.02±0.004	10.97±1.24 ^c	21.31±1.63 ^a
玉 米 秸 秆 Maize straw	101.92±3.26 ^a	3.71±0.002	13.89±1.52 ^{bc}	21.93±2.01 ^a
青 稞 秸 秆 Hullessbarley straw	80.76±2.79 ^b	4.59±0.007	15.36±2.54 ^{ab}	15.49±1.65 ^b
油 菜 秸 秆 Rape straw	59.09±0.79 ^d	3.69±0.01	12.34±1.37 ^{bc}	14.68±1.52 ^b
小 麦 秸 秆 Wheat straw	80.73±3.17 ^b	4.01±0.007	17.74±3.48 ^a	14.44±1.05 ^b

同列数据肩标不同字母表示差异显著 ($P<0.05$), 相同或无字母表示差异不显著 ($P>0.05$)。下表同。

In the same column, values with different letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$), while with no letter or the same letter superscripts mean no significant difference ($P>0.05$). The same as below.

2.3 不同作物秸秆对 IVDMD 和 IVNDFD 的影响

不同作物秸秆对 IVDMD 和 IVNDFD 的影响见表 4。5 种作物秸秆之间 IVDMD 和 IVNDFD 均存在显著差异 ($P<0.05$), 其中 IVDMD 以玉米秸秆最高 (57.35%), 且按玉米秸秆、豌豆秸秆、青稞秸秆、油菜秸秆、小麦秸秆的顺序依次显著降低 ($P<0.05$); 对于 IVNDFD, 仍以玉米秸秆最高 (53.73%), 且按玉米秸秆、青稞秸秆豌豆、豆秸秆、油菜秸秆、小麦秸秆的顺序依次显著降低 ($P<0.05$)。

表 4 不同作物秸秆对 IVDMD 和 IVNDFD 的影响

Table 4 Effects of different crop straws on IVDMD and IVNDFD %		
作物秸秆 Crop Straws	体外干物质消失率 IVDMD	体外中性洗涤纤维消失率 IVNDFD
豌豆秸秆 Common vetch straw	49.27±2.35 ^b	32.71±3.01 ^c
玉米秸秆 Maize straw	57.35±2.32 ^a	53.73±2.36 ^a
青稞秸秆 Hullessbarley straw	43.28±2.47 ^c	39.99±3.65 ^b

油菜秸秆 Rape straw	35.16±2.61 ^d	23.49±1.98 ^d
小麦秸秆 Wheat straw	31.61±2.10 ^e	18.08±1.63 ^e

2.4 不同作物秸秆对体外发酵 pH 和 NH₃-N 浓度的影响

不同作物秸秆对体外发酵 pH 和 NH₃-N 浓度的影响见表 5。玉米秸秆体外发酵液的 pH 最低（6.42），显著低于其他 4 种作物秸秆（ $P<0.05$ ），且其他 4 种作物秸秆体外发酵液的 pH 没有显著差异（ $P>0.05$ ）。豌豆秸秆体外发酵液中 NH₃-N 浓度显著高于其他 4 种作物秸秆（ $P<0.05$ ），玉米秸秆、青稞秸秆和小麦秸秆体外发酵液中 NH₃-N 浓度相对较低，且显著低于豌豆秸秆和油菜秸秆（ $P<0.05$ ）。

表 5 不同作物秸秆对体外发酵 pH 和 NH₃-N 浓度的影响

Table 5 Effects of different crop straws on <i>in vitro</i> fermentation pH and NH ₃ -N concentration		
作物秸秆 Crop straws	pH	NH ₃ -N 浓度 NH ₃ -N concentration/ (mg/dL)
豌豆秸秆 Common vetch straw	6.55±0.88 ^a	19.74±1.63 ^a
玉米秸秆 Maize straw	6.42±0.76 ^b	9.45±0.79 ^c
青稞秸秆 Hullessbarley straw	6.49±0.25 ^a	10.94±0.88 ^c
油菜秸秆 Rape straw	6.51±0.35 ^a	16.82±1.56 ^b
小麦秸秆 Wheat straw	6.53±0.18 ^a	9.62±1.98 ^c

2.5 不同作物秸秆对体外发酵主要 VFA 产量的影响

不同作物秸秆对体外发酵主要 VFA 产量的影响见表 6。5 种作物秸秆体外发酵 48 h 后乙酸、丙酸、丁酸和总 VFA 产量均以玉米秸秆最高，其中玉米秸秆乙酸产量显著高于豌豆秸秆、青稞秸秆和小麦秸秆（ $P<0.05$ ），丙酸和总 VFA 产量显著高于其他 4 种作物秸秆（ $P<0.05$ ），丁酸产量显著高于豌豆秸秆、油菜秸秆和小麦秸秆（ $P<0.05$ ）；乙丙比以玉米秸秆和青稞秸秆较低，且两者之间没有显著差异（ $P>0.05$ ），但均显著低于其他 3 种作物秸秆（ $P<0.05$ ）。

表 6 不同作物秸秆对体外发酵主要 VFA 产量的影响

Table 6 Effects of different crop straws on <i>in vitro</i> fermentation main VFA yields mmol/L					
作物秸秆 Crop straws	乙酸	丙酸	丁酸	总 VFA	乙丙比
	Acetic acid	Propionic acid	Butyric acid	Total VFA	A/P

豌豆秸秆	Common vetch straw	24.47±1.32 ^b	7.78±0.86 ^{bc}	2.36±0.09 ^b	36.00±3.21 ^{bc}	3.17±0.12 ^b
玉米秸秆	Maize straw	28.59±1.62 ^a	10.64±1.23 ^a	3.41±0.12 ^a	43.64±2.65 ^a	2.70±0.14 ^d
青稞秸秆	Hullessbarley straw	23.51±1.37 ^b	8.95±1.05 ^b	3.18±0.31 ^a	36.44±2.14 ^{bc}	2.65±0.09 ^d
油菜秸秆	Rape straw	26.03±1.24 ^{ab}	7.66±0.65 ^{bc}	2.26±0.10 ^b	37.68±1.89 ^b	3.44±0.85 ^a
小麦秸秆	Wheat straw	20.68±1.41 ^c	7.27±0.74 ^c	2.63±0.21 ^b	31.24±1.79 ^c	2.87±0.65 ^c

3 讨 论

3.1 不同作物秸秆对体外发酵产气量的影响

研究表明，5 种作物秸秆之间体外发酵产气量均存在差异，以玉米秸秆最高，这可能是由于不同作物秸秆所含碳水化合物的量和组成不同所造成的。作物秸秆体外发酵产气来源主要是碳水化合物，它们所含蛋白质在体外发酵时也会产生一部分气体，但整个体外发酵过程中，蛋白质对产气量的贡献量远低于碳水化合物^[21]。Cone 等^[22]对酪蛋白和淀粉的体外发酵研究发现，发酵 72 h 后蛋白质发酵的产气量仅为碳水化合物的 30%。此外，本试验所用 5 种作物秸秆中，豌豆为豆科作物，油菜为十字花科作物，其他 3 种作物秸秆均为禾本科作物，种属不同可能也是粗饲料体外发酵产气量存在差异的原因之一。有研究报道指出不同类型粗饲料体外发酵产气特性有较大差异，通常情况下，种内差异较小，种间差异较大^[21]。海存秀^[23]利用阉割牦牛对青海高原天然牧草营养价值进行评价时得出天然牧草在体外发酵 12~48 h 时产气量的平均值急剧上升，48 h 以后产气量的平均值的增加逐渐平缓。由图 1 可知，本试验中 5 种作物秸秆体外发酵产气量在 6~24 h 时均急剧上升，在 36 h 以后趋于平缓，此结果与海存秀^[23]报道结果有差异，两者之间的差异可能是由于发酵底物不同和发酵液成分不同造成的。

3.2 不同作物秸秆对体外发酵产气参数及 CH₄ 产量的影响

在体外发酵过程中，发酵底物为瘤胃微生物所利用的程度可以通过体外发酵累积产气量来反映^[24]。本试验中，各作物秸秆之间 V_f 存在明显差异，这可能是由于不同作物秸秆可溶性非结构性碳水化合物与 CP 的比例不同所造成的。汤少勋等^[21]研究报道，当可溶性非结构性碳水化合物与 CP 之间的比例越大时， V_f 越高，比例越小时， V_f 越低，亦即随着牧草中非

结构性碳水化合物含量的增加，体外发酵增强。高巍等^[25]研究表明，青贮玉米秸秆中性洗涤可溶物(NDS)的产气量占饲草累积产气量的绝大部分。

FRD₀表示体外发酵 12 h 之前的产气速率，t_{0.5}表示体外产气量达到最大值 1/2 时所需时间，通常情况下，FRD₀越大，t_{0.5}越小^[26]。在本试验中，5 种作物秸秆之间 FRD₀ 差异并不显著，只有青稞秸秆 FRD₀ 相对较大，这可能是由于作物秸秆中 NDF/CP 的差异引起的，NDF 为难降解物质，CP 为易降解物质，二者比例越高，越不容易降解；相反，则越容易降解，发酵速率就越快。Muck 等^[27]研究报道，体外发酵过程中 65%~70%产气量在发酵初期的 9~10 h 内产生，而本试验中，5 种作物秸秆体外发酵 t_{0.5} 均在 10~19 h 之间，明显高于 Muck 等^[27]所报道的结论，这种差异可能是由于两者体外发酵方式以及发酵底物的不同而导致的。

反刍动物瘤胃中的 CH₄ 是由瘤胃中碳水化合物经瘤胃微生物厌氧发酵所生成的^[28]。在瘤胃代谢过程中，瘤胃中 CH₄ 的生成是瘤胃发酵能量损失的主要原因之一，据报道，约 6%~15%的饲粮能量以 CH₄ 的形式散失^[29]。瘤胃中 CH₄ 的生成与饲粮中 CP、ADF、NDF、NFE 含量以及 IVDMD 相关^[30]。在本研究中，不同作物秸秆之间体外发酵 CH₄ 产量存在一定差异，其中玉米秸秆最高，与刘树军等^[31]已报道结果一致，这种差异这可能是由于不同作物秸秆中可发酵的碳水化合物类型以及与 CH₄ 生成相关的成分含量的不同所致^[32]。有报道指出作物秸秆纤维物质含量是影响 CH₄ 产量的一个重要因素^[33]，这可能是由于富含纤维物质的饲料能促进一些纤维分解菌和甲烷合成菌的共生引起的，这类微生物可以偶联碳水化合物的降解产物，利用氢气还原二氧化碳以合成 CH₄^[34]。

3.3 不同作物秸秆对 IVDMD 和 IVNDFD 的影响

干物质降解率 (DMD) 和中性洗涤纤维降解率 (NDFD) 是体现瘤胃发酵过程中粗饲料利用率的重要指标^[12]。粗饲料在瘤胃中的降解实际上是微生物以及微生物分泌的酶相互作用的结果，而降解率的高低与营养物质的结构、微生物对底物的附着能力以及微生物分泌酶的催化能力有关^[6]。在本试验中，不同作物秸秆 IVDMD 存在差异，其中以玉米秸秆最高。

这中差异可能是由于不同作物秸秆中非结构性碳水化合物以及可消化有机物的含量不同造成的，玉米秸秆非结构性碳水化合物和可消化有机物含量高于其他作物秸秆，此种结果也暗示玉米秸秆很容易被瘤胃微生物降解利用。

由于 NDF 的降解性影响动物的生长性能，并且作物秸秆在反刍动物瘤胃中的降解率差异比较大，因此，作物秸秆的 NDFD 是评定牧草品质的一个重要指标。本研究中，5 种作物秸秆中以玉米秸秆 IVNDFD 最高，而其他作物秸秆的 IVNDFD 也存在差异，造成这种差异的原因可能与微生物与底物的吸附能力以及底物的结构有关，相对于其他作物秸秆，玉米秸秆可能更容易吸附纤维降解菌。Fernando 等^[35]报道细菌与底物的吸附能力是影响底物消化率的重要因子，徐俊等^[36]报道苜蓿茎被瘤胃微生物降解的速率及程度受其组织结构及组分影响，同时其指出微生物对植物组织的吸附方式的不一致性也可能是造成不同底物纤维降解率不同的原因之一。

3.4 不同作物秸秆对体外发酵 pH 和 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度的影响

瘤胃液 pH 是评价瘤胃内环境的重要指标之一，维持瘤胃正常 pH 是保证瘤胃正常发酵的前提，而正常奶牛瘤胃液 pH 的正常范围为 5.5~7.5^[37]，在本试验中，5 种作物秸秆体外发酵液的 pH 范围为 6.32~6.59，均在正常范围内。已有报道指出，当 pH 大于 5.7 时，瘤胃微生物具有最大生长速度^[38]，由此可知，本试验中的 5 种作物秸秆体外发酵均有利于微生物的生长。瘤胃液 pH 的大小受反刍动物唾液分泌以及有机酸的生成、吸收和排出等多种因素影响，但其波动的根本原因在于饲粮结构^[39]，本试验的 5 种作物秸秆中以玉米秸秆的体外发酵液的 pH 最低（表 5），可能是由于体外发酵产生较多的 VFA 所造成的。体外发酵液 pH 大小与各作物秸秆对应的体外发酵总 VFA 产量基本保持一致。

瘤胃中的 $\text{NH}_3\text{-N}$ 是瘤胃微生物合成微生物蛋白和机体蛋白质的主要原料，也是微生物生长的重要氮源，其浓度在一定程度上可以反映出瘤胃中蛋白质降解与合成之间的平衡状态^[40]。Wanapat 等^[41]研究指出瘤胃液中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 的最佳浓度范围为 6.2~27.5 mg/dL，而在本试

验中, 5 种发酵底物体外发酵液中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度范围为 6.26~19.74 mg/dL, 均在所报道的最佳浓度范围内。同时, 5 种作物秸秆之间体外发酵液中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度均存在显著差异, 这种差异可能是由于不同作物秸秆蛋白质含量不同所造成的。5 种作物秸秆中以豌豆秸秆的体外发酵液中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度最高, 且显著高于其他作物秸秆, 这可能是由于豌豆为豆科植物, 而除油菜秸秆外, 其他作物秸秆均为禾本科植物。已有报道指出豆科植物的蛋白质含量大于禾本科植物^[6], 由此可知, 豆科的豌豆秸秆的蛋白质含量高于禾本科的玉米秸秆、青稞秸秆和小麦秸秆, 因此体外发酵液中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度较高。

3.5 不同作物秸秆对体外发酵 VFA 产量的影响

VFA 主要是由瘤胃微生物对饲料中的营养物质进行厌氧发酵而得到的终产物^[42], 是反刍动物赖以生存、保持正常生长、泌乳和繁殖的主要能源, 可提供反刍动物总能量需要的 70%~80%, 因而在反刍动物碳水化合物营养中占有重要地位^[43]。VFA 的种类主要有乙酸、丙酸、丁酸、戊酸、异丁酸、异戊酸等, 而对动物代谢最为重要的是乙酸、丙酸、丁酸, 三者约占瘤胃总 VFA 产量的 95%, 其中又以乙酸是产量最大的 VFA, 喂粗饲料时乙酸产量约占总 VFA 产量的 70%~75%^[44]。在本试验中, 不同作物秸秆体外发酵 VFA 产量及其组成均存在一定差异, 玉米秸秆体外发酵乙酸、丙酸、丁酸以及总 VFA 的产量均显著高于其他作物秸秆, 但乙丙比却相对较低; 小麦秸秆体外发酵总 VFA 产量相对较低, 但其乙丙比相对较高, 这种差异可能是由不同作物秸秆所含可发酵有机物以及 NDF 含量不同所引起的。郭冬生^[44]研究报道 VFA 的生成量主要取决于可发酵有机物, 李旺^[45]报道饲料中矿物元素也会影响到 VFA 的产量, 同时指出 VFA 的组成受饲料中 NDF 和非 NDF 的影响较大。此外, 不同来源植物细胞壁体外发酵 VFA 产量也存在显著差异。张元庆等^[46]报道, 6 种不同来源植物细胞壁发酵产生总 VFA 及除丁酸外的其他 VFA 组分含量均存在显著性差异。

4 结 论

- ① 体外发酵 48 h 后, 玉米秸秆的 48 h 产气量、理论最大产气量、 CH_4 产量、IVDMD、

IVNDFD 均高于其他 4 种作物秸秆。

② 体外发酵 48 h 后,玉米秸秆发酵液的 pH 以及 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度均低于其他 4 种作物秸秆。

③ 体外发酵 48 h 后,玉米秸秆的乙酸、丙酸、丁酸以及总 VFA 产量均高于其他 4 种作物秸秆。

④ 综合不同作物秸秆体外产气参数、体外发酵指标和降解率发现,玉米秸秆体外发酵效果最佳,与其他试验作物秸秆相比,更容易被瘤胃微生物降解利用;然而,玉米秸秆在发酵时也产生了较多的 CH_4 气体,在实际畜牧生产中易造成能量的浪费。因此,在实际畜牧生产中,应综合考量各种因素,使得秸秆利用率最大化。

参考文献:

- [1] 呼天明,边巴卓玛,曹中华,等.施行草地农业推进西藏畜牧业的可持续发展[J].家畜生态学报,2005,26(1):78–80.
- [2] 边巴卓玛,呼天明,吴红新.依靠西藏野生牧草种质资源提高天然草场的植被恢复效率[J].草业科学,2006,23(2):6–8.
- [3] 姜文清,周志宇,秦彧,等.西藏牧草和作物秸秆热值研究[J].草业科学,2010,27(7):147–153.
- [4] 赵禹臣,孟庆翔,参木有,等.西藏高寒草地冷暖季牧草的营养价值和养分提供量分析[J].动物营养学报,2012,24(12):2515–2522.
- [5] 曲广鹏.西藏农区牧草和饲草作物引种试验研究[D].硕士学位论文.北京:中国农业科学院,2012.
- [6] 张中岳.西藏地区牧草营养价值及其瘤胃降解特性的研究[D].硕士学位论文.西安:西北农林科技大学,2009.
- [7] 张吉,原现军,郭刚,等.添加剂对西藏燕麦和箭筈豌豆混合青贮发酵品质的影响[J].草业学报,2014,23(5):359–364.

- [8] 孙肖慧,原现军,郭刚,等.添加乙醇和糖蜜对西藏地区燕麦和紫花苜蓿混合青贮发酵品质的影响[J].畜牧兽医学报,2014,45(3):417–425.
- [9] 李君凤,孙肖慧,原现军,等.添加乙酸对西藏燕麦和紫花苜蓿混合青贮发酵品质和有氧稳定性的影响[J].草业学报,2014,23(5):271–278.
- [10] 赵庆杰,原现军,郭刚,等.添加糖蜜和乳酸菌制剂对西藏青稞秸秆和多年生黑麦草混合青贮发酵品质的影响[J].草业学报,2014,23(4):100–106.
- [11] 原现军.西藏地区农作物秸秆与牧草混合青贮研究[D].博士学位论文.南京:南京农业大学,2012.
- [12] 王祚,周传社,汤少勋,等.两种酵母对奶牛瘤胃体外发酵特性的影响[J].农业现代化研究,2014,35(2):218–224.
- [13] 杨胜.饲料分析及饲料质量检测技术[M].北京:北京农业大学出版社,1993:58–64.
- [14] MENKE K H,STEINGASS H.Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid[J].Animal Research and Development,1988,28(7):27–55.
- [15] WANG M,TANG S X,Tan Z L.Modeling *in vitro* gas production kinetics:derivation of logistic-exponential (LE) equations and comparison of models[J].Animal Feed Science and Technology,2011,165(3/4):137–150.
- [16] WANG M,JANSSEN P H,SUN X Z,et al.A mathematical model to describe *in vitro* kinetics of H₂ gas accumulation[J].Animal Feed Science and Technology,2013,184(1/2/3/4):1–16.
- [17] LI X Z,LONG R J,YAN C G,et al.Rumen microbial responses in fermentation characteristics and production of CLA and methane to linoleic acid in associated with malate or fumarate[J].Animal Feed Science and Technology,2010,155(2/3/4):132–139.

- [18] 冯宗慈,高民.通过比色测定瘤胃液氨氮含量方法的改进[J].畜牧与饲料科学,2010,31(6/7):37.
- [19] WANG M,SUN X Z,JANSSEN P H,et al.Responses of methane production and fermentation pathways to the increased dissolved hydrogen concentration generated by eight substrates in *in vitro* ruminal cultures[J].Animal Feed Science and Technology,2014,194:1–11.
- [20] HALL M B,PELL A N,CHASE L E.Characteristics of neutral detergent-soluble fiber fermentation by mixed ruminal microbes[J].Animal Feed Science and Technology,1998,70(1/2):23–39.
- [21] 汤少勋,姜海林,周传社,等.不同牧草品种对体外发酵产气特性的影响[J].草业学报,2005,14(3):72–77.
- [22] CONE J W,VAN GELDE A H.Influence of protein fermentation on gas production profiles[J].Animal Feed Science and Technology,1999,76(3/4):251–264.
- [23] 海存秀.利用体外产气法评定青海高原天然牧草营养价值的研究[D].硕士学位论文.西宁:青海大学,2007.
- [24] METZLER-ZEBELI B U,SCHERR C,SALLAKU E,et al.Evaluation of associative effects of total mixed ration for dairy cattle using *in vitro* gas production and different rumen inocula[J].Journal of the Science of Food and Agriculture,2012,92(12):2479–2485.
- [25] 高巍,王新峰,潘晓亮,等.玉米秸青贮与黄贮及苜蓿干草的体外动态消化研究[J].石河子大学学报:自然科学版,2002,6(3):222–225.
- [26] WANG M,SUN X Z,TANG S X,et al.Deriving fractional rate of degradation of logistic-exponential (LE) model to evaluate early *in vitro* fermentation[J].Animal,2013,7(6):920–929.

- [27] MUCK R E,FILYA I,CONTRERAS-GOVEA F E.Contreras-Govea F E.Inoculant effects on alfalfa silage:*in vitro* gas and volatile fatty acid production[J].Journal of Dairy Science,2007,90(11):5115–5125.
- [28] 郭嫣秋,胡伟莲,刘建新.瘤胃甲烷菌及甲烷生成的调控[J].微生物学报,2005,45(1):145–148.
- [29] JOHNSON K A,JOHNSON D E.Methane emissions from cattle[J].Journal of Animal Science,1995,73(8):2483–2492.
- [30] 郭雪峰,金海,卢德勋,等.甲烷气体产生量与牧草营养参数的相关性分析.江西农业大学学报,2009,31(1):35–40.
- [31] 刘树军,李向林,何峰,等.奶牛常用饲草的体外发酵 CH_4 产量研究[J].草地学报,2011,19(5):858–864.
- [32] MOSS A R,GIVENS D I,GARNSWORTHY P C.The effect of alkali treatment of cereal straws on digestibility and methane production by sheep[J].Animal Feed Science and Technology,1994,49(3/4):245–259.
- [33] HOLTER J B,YOUNG A J.Methane prediction in dry and lactating Holstein cows[J].Journal of Dairy Science,1992,75(8):2165–2175.
- [34] MILLER T L,WOLIN M J.Inhibition of growth of methane-producing bacteria of the ruminant forestomach by hydroxymethylglutaryl-SCoA reductase inhibitors[J].Journal of Dairy Science,2001,84(6):1445–1448.
- [35] FERNANDO W M A D B,FLINT S,BRENNAN C S,et al.The influence of environmental factors on the adhesion of combinations of probiotics to rice fibre fractions[J].World Journal of Microbiology and Biotechnology,2012,28(6):2293–2302.

- [36] 徐俊,侯玉洁,赵国琦,等.瘤胃微生物对苜蓿茎降解特性及超微结构的影响[J].动物营养学报,2014,26(3):776–782.
- [37] KRAUSE K M,OETZEL G R.Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds:a review[J].Animal Feed Science and Technology,2006,126(3/4):215–236.
- [38] VAN HOUTERT M F J.The production and metabolism of volatile fatty acids by ruminants fed roughages:a review[J].Animal Feed Science and Technology,1993,43(3/4):189–255.
- [39] XU S,HARRISON J H,CHALUPA W,et al.The effect of ruminal bypass lysine and methionine on milk yield and composition of lactating cows[J].Journal of Dairy Science,1998,81(4):1062–1077.
- [40] FIRKINS J L,YU Z,MORRISON M.Ruminal nitrogen metabolism:perspectives for integration of microbiology and nutrition for dairy[J].Journal of Dairy Science,2007,90(Suppl.1):E1–E6.
- [41] WANAPAT M,PIMPA O.Effect of ruminal $\text{NH}_3\text{-N}$ levels on ruminal fermentation,purine derivatives,digestibility and rice straw intake in swamp buffaloes[J].Asian-Australasian Journal of Animal Sciences,1999,12(6):904–907.
- [42] BERGMAN E N,REID R S,MURRAY M G,et al.Interconversions and production of volatile fatty acids in the sheep rumen[J].Biochemistry Journal,1965,97(1):53–58.
- [43] 王中华.反刍动物挥发性脂肪酸中间代谢[J].草食家畜,1995(2):23–31,34.
- [44] 郭冬生,彭小兰.反刍动物挥发性脂肪酸消化代谢规律刍议[J].畜牧与饲料科学,2005(1):1–3.
- [45] 李旺.瘤胃挥发性脂肪酸的作用及影响因素[J].中国畜牧杂志,2012,48(7):63–66.
- [46] 张元庆,魏吉安,孟庆翔.不同植物细胞壁的体外发酵特征及其对甲烷产生的贡献[J].畜牧

兽医学报,2006,37(10):992–998.

Study on *in Vitro* Fermentation Characteristics of Different Crop Straws in Tibet Region

Basangzhuza¹ CHEN Liang^{2,3*} Aosiman¹ YU Cuicui¹ ZHAO Li¹ ZHOU Chuanshe^{2,4**}

LIN Bin^{1**}

(1. *Institute of Animal Science of Tibet Academy of Agricultural and Animal Husbandry Sciences, Lhasa 850000, China*; 2. *College of Animal Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410125, China*; 3. *Scientific Observing and Experimental Station of Animal Nutrition and Feed Science in South-Central of Ministry of Agriculture, Hunan Provincial Engineering Research Center of Healthy Livestock, Key Laboratory of Agri-Ecological Processes in Subtropical Region, Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125, China*; 4. *Hunan Co-Innovation Center of Animal Production Safety, Changsha 410128, China*)

Abstract: This experiment aimed to evaluate the nutritional value of different crop straws in Tibet region using *in vitro* gas production technology. Five kinds of common crop straws (common vetch straw, maize straw, hullessbarley straw, wheat straw and rape straw) were selected in Tibet region, and the 48 h gas production, theoretical maximum gas production (V_t), methane (CH_4) production, gas production parameters of LE model, pH and ammonia nitrogen (NH_3-N) concentration in fermented fluid, main volatile fatty acids (VFA) production, *in vitro* dry matter degradability (IVDMD) and *in vitro* neutral detergent fiber degradability (IVNDFD) of five kinds

*Contributed equally

**Corresponding authors: ZHOU Chuanshe, professor, E-mail: zcs@isa.ac.cn; LI Bin, assistant professor, E-mail: 276504821@qq.com (责任编辑 菅景颖)

of crop straws were determined using *in vitro* gas production technique by the single factor experimental design. The results showed that the 48 h gas production of five kinds of crop straws reduced in the order of maize straw, hullessbarley straw, common vetch straw, wheat straw and rape straw. After 48 h *in vitro* fermentation, the theory maximum gas production, IVDMD, IVNDFD, CH₄ production, propionic acid and total VFA yields of maize straw were significantly higher than those of the other four kinds of crops straws ($P<0.05$), while the *in vitro* fermented fluid pH of maize straw was significantly lower than that of the other four kinds of crop straws ($P<0.05$). The results indicate that the maize straw possesses the best *in vitro* fermentation effect and it is more easily to be utilized by the rumen microorganisms compare with the other crop straws in this experiment.

Key words: Tibet; crop straws; *in vitro* fermentation